

- [6] J. Schierstaedt (2020). *Environmental Microbiology* 22(7), 2639-2652.
- [7] E. Fornfeld et al. (2017). *Front Microbiol.* 8, 757.
- [8] M. Marvasi et al. (2013). *PLoS One* 8, e80871.
- [9] A. S. George, M. T. Brandl (2021). *Microorganisms* 9, 2485.
- [10] S. Yaron, Ute Römling (2014). *Microbial biotechnology* 7(6), 496-516.
- [11] C. N. Berger et al. (2008). *ISME J.* 3, 261-265.
- [12] J. D. G. Jones, J. L. Dangl (2006). *Nature* 444, 323-329, doi:10.1038/nature05286.

Hanna Willenbockel, Masterstudentin an der TU Braunschweig,
h.willenbockel@tu-bs.de

Dr. Jasper Schierstaedt,
Leibniz-Institut für Gemüse- und
Zierpflanzenbau e. V., Großbeeren,
jasper.schierstaedt@julius-kuehn.de

NEUROBIOLOGIE

Die Entwicklung des menschlichen Neocortex aus Sicht der Paläogenetik

Die Vergrößerung des Neocortex während der Evolution des modernen Menschen erfordert eine enorme Teilungsfähigkeit neuronaler Stamm- und Vorläuferzellen sowie hohe Präzision bei der Verteilung des Erbguts auf die Tochterzellen. Welche Gene dazu beigetragen haben könnten, zeigt ein molekulargenetischer Ansatz.

Die kognitiven Fähigkeiten des modernen Menschen und damit sein Erfolg in der Evolution werden auf die ausgeprägte Vergrößerung des Neocortex der Großhirnrinde zurückgeführt. Im Vergleich zum Schimpansen hat sich dessen Zellzahl auf etwa das Doppelte erhöht. Die genetischen Grundlagen dieser Entwicklung aufzuklären, ist das Ziel einer Kooperation der Arbeitsgruppe um Wieland Huttner vom Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik mit der des Nobelpreisträgers Svante Pääbo (vgl. BIUZ 4/2022, S. 15). Die Forscher konzentrieren sich auf die Veränderungen, die seit der Trennung des modernen Menschen (*Homo sapiens*) vom Neandertaler und Denisova-Menschen im Genom stattgefunden haben. Diese wirken erstaunlich unspektakulär: Unter reichlich 31.000 Nukleotidpositionen, die sich bei allen bekannten Genomen des modernen Menschen von denen der frühen Menschen unterscheiden, führten lediglich 96 zum Austausch einer Aminosäure im kodierten Protein, ca. 30 betreffen mutmaßliche Spleißstellen und etwas mehr als 3000 liegen in regulatorischen Sequenzen [1].

Interessanterweise sind die Aminosäureaustausche nicht zufällig im Genom verteilt. Eine überdurchschnittliche Häufung findet sich bei Proteinen, die im Verlauf der mitotischen Zellteilung an der Trennung der Chromosomen beteiligt sind: ein Austausch bei dem Kinesin-ähnlichen Motorprotein KIF18a, das für die korrekte Positionierung der Chromosomen am Spindelapparat bedeutsam ist, zwei Austausche bei KNL1, das als Teil des Kinetochors die Chromosomen an die Mikrotubuli des Spindelapparats anheftet, und drei Austausche bei SPAG5, einem mit den Mikrotubuli assoziierten Protein, das den Kontakt zwischen Kinetochor und Spindelapparat stabilisiert.

Zuverlässige Chromosomen-segregation an der Basis des Stammbaums von Nervenzellen

Die drei genannten Proteine werden während der Embryonalentwicklung vor allem im sich entwickelnden Neocortex exprimiert, und zwar genau während der Zeitspanne, in der dort intensive Zellteilungen stattfinden. Innerhalb dieser Zeitspanne fällt auf, dass die apikalen Vorläuferzellen (Abbildung 1) von

Nervenzellen des modernen Menschen während der Mitose eineinhalbmal so lange in der Metaphase verweilen wie die der Menschenaffen Orang-Utan und Schimpanse. Somit steht mehr Zeit für die korrekte Anordnung der Chromosomen in der Metaphaseplatte zur Verfügung, und es ist naheliegend, dass dadurch die Chromosomen zuverlässiger auf die Tochterzellen verteilt werden. Die Präzision der Chromosomenverteilung ist bei diesem Zelltyp besonders relevant, da letztlich alle Neuronen im Neocortex auf apikale Vorläuferzellen zurückgehen und bei frühen Zellteilungen auftretende Chromosomenaberrationen mit jeder weiteren Zellteilung vervielfältigt werden.

Wie lang die Metaphase dauert, bestimmt der so genannte Spindel-Kontrollpunkt: Dieser Mechanismus verzögert den Übergang von der Metaphase in die Anaphase solange, bis alle Chromosomen korrekt in der Metaphaseplatte positioniert sind. Experimentell lässt sich das an organähnlichen Strukturen zeigen, die aus induzierten pluripotenten Stammzellen gewonnen und als Organoide bezeichnet werden. Bei geeigneten Kulturbedingungen können Organoiden auch die Entwicklung des Gehirns nachstellen. In derartigen Organoiden aus menschlichen Zellen fanden sich bei den apikalen Vorläuferzellen mehr aktive Komponenten des Spindel-Kontrollpunkts (untersucht wurden die Faktoren BubR1 und Mad1) an den Kinetochoren der Chromosomen im Vergleich zu denen von Schimpansen – passend zur beim modernen Menschen verlängerten Metaphase

[2]. Und bei der Trennung der Schwesterchromatiden während der Anaphase und Telophase blieben bei den menschlichen apikalen Vorläuferzellen nur etwa halb so viele einzelne Chromatiden (1,3%) zurück wie bei denen von Schimpansen (2,6%). Offenbar führt die verlängerte Metaphase beim Menschen tatsächlich zu einer zuverlässigeren Segregation der Chromatiden.

Als nächstes gingen die Forscher der Frage nach, ob die Länge der Metaphase bei apikalen Vorläuferzellen durch die eingangs genannten Proteine KIF18a, KNL1 und SPAG5 beeinflusst wird. Dabei machten sie sich zunutze, dass diese drei Proteine bei Mäusen an den variablen Stellen die gleichen Aminosäuren aufweisen wie bei Schimpansen und archaischen Menschen. Durch Mutagenese im Mausgenom mit Hilfe der CRISPR-Cas-Technologie ersetzten sie einzelne oder alle sechs dieser Aminosäuren durch die des modernen Menschen und untersuchten an embryonalem Gewebe dieser Mäusestämme die Dauer der Metaphase während der Gehirnentwicklung [2]. Sofern KIF18a und KNL1 beide in der Variante des modernen Menschen (im Folgenden kurz als „humanisiert“ bezeichnet) vorlagen, verlängerte sich die Metaphase bei den apikalen Vorläuferzellen um 26 Prozent auf 5,8 Minuten im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen (4,6 min). War nur eines dieser beiden Proteine humanisiert, fiel die Verlängerung kürzer aus, die humanisierte Variante von SPAG5 hatte dagegen keinen Effekt. Demnach bewirken KIF18a und KNL1 in den Varianten des modernen Menschen additiv eine Verlängerung der Metaphase bei der Teilung apikaler Vorläuferzellen. Dieser Effekt betraf spezifisch nur die Metaphase, aber weder die Prometaphase noch die Anaphase.

Als Gegenprobe tauschten die Forscher in einer etablierten Linie menschlicher embryonaler Stammzellen (H9 ESC) die variablen Amino-

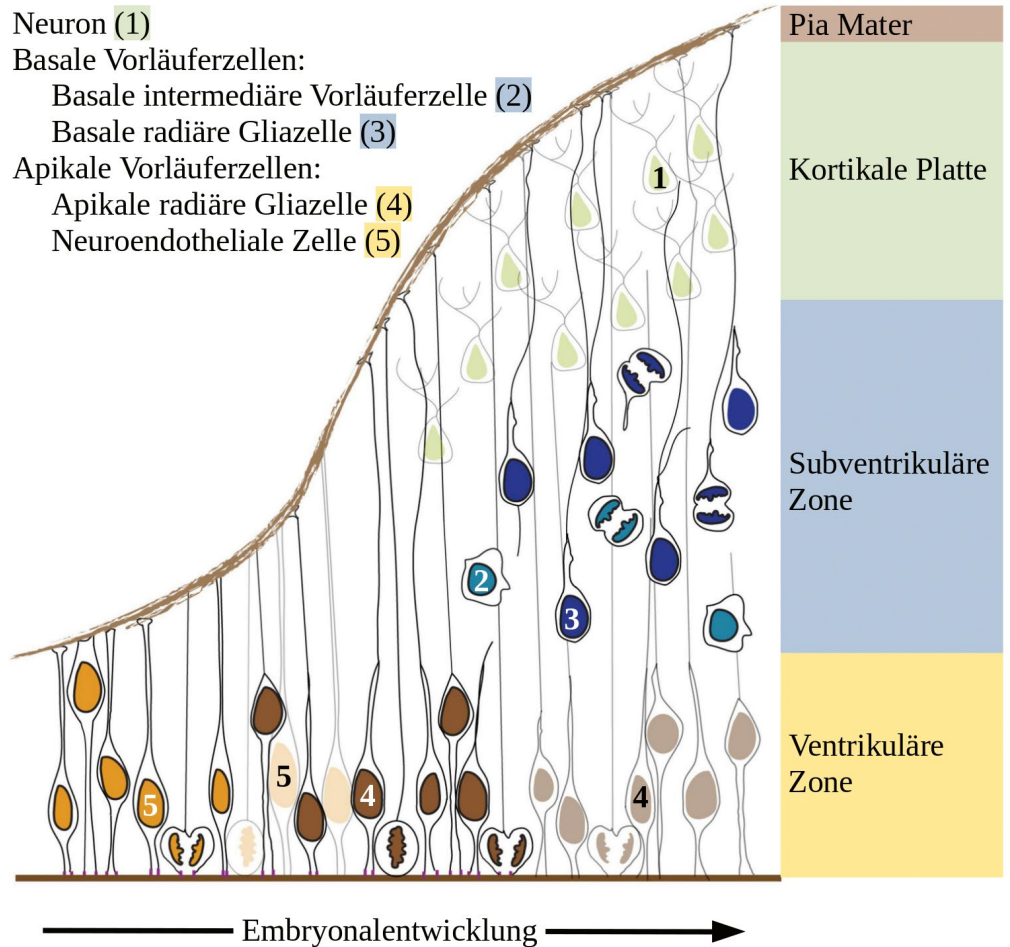


ABB. 1 Entwicklung des Neocortex (von links nach rechts). Neuroendotheliale Zellen bilden zunächst das einschichtige Endothel des Neuralrohrs (links), später entwickeln sie sich zu apikalen radiären Gliazellen. Diese wiederum können sich durch symmetrische Teilung vermehren oder durch asymmetrische Teilung unter Selbsterhalt je eine basale Vorläuferzelle bilden. Die apikalen radiären Gliazellen verbleiben in der ventrikulären, zum Lumen des Neuralrohrs orientierten Zone, während die basalen Vorläuferzellen die periphere, subventrikuläre Zone bilden. Die Subpopulation der basalen radiären Gliazellen vermehrt sich dort durch weitere symmetrische Teilungen. Letztlich bilden die basalen Vorläuferzellen die große Masse der Neuronen, entweder durch asymmetrische Teilung der basalen radiären Gliazellen unter Selbsterhalt oder durch selbst verbrauchende, symmetrische Teilung der basalen intermediären Vorläuferzellen. Die Vergrößerung des Neocortex bei Primaten korreliert mit erhöhter Prävalenz der basalen radiären Gliazellen im Verhältnis zu den intermediären Vorläuferzellen. Abbildung aus [3] CC BY.

säuren von KIF18a und KNL1 gegen die der archaischen Menschen aus [2]. Bei Organoiden aus diesen in den „Ahnenzustand“ zurückversetzten menschlichen Zellen verkürzte sich die Länge der Metaphase der apikalen Vorläuferzellen konsistent um 25 Prozent auf 7,0 min im Vergleich zu 9,2 min bei den unveränderten Zellen. Auch in diesem Experiment waren weder die Prometaphase noch die Anaphase betroffen. Demnach beeinflussen KIF18a und KNL1 auch vor dem Hintergrund

des menschlichen Genoms spezifisch die Länge der Metaphase der apikalen Vorläuferzellen.

Die verlängerte Metaphase bei den bezüglich KIF18a und KNL1 humanisierten Mäusen ging mit deutlich erhöhter Aktivität des Spindel-Kontrollpunkts in den apikalen Vorläuferzellen einher [2]: Die durchschnittliche Zahl der für BubR1- und MAD1-positiven Kinetochore war gegenüber dem Wildtyp um 29 Prozent bzw. 36 Prozent erhöht. Dagegen nahm bei den in

den Ahnenzustand zurückversetzten apikalen Vorläuferzellen des Menschen die durchschnittliche Anzahl der BubR1- und MAD1-positiven Kinetochore um 30 Prozent bzw. 28 Prozent ab – passend zur verkürzten Metaphase. Diese Veränderungen sind vergleichbar mit den zwischen Menschenaffen und modernem Menschen festgestellten Unterschieden. Somit korreliert die Aktivität des Spindel-Kontrollpunkts unabhängig vom genetischen Hintergrund der apikalen Vorläuferzelle mit den jeweils vorliegenden Varianten von KIF18a und KNL1. Passend dazu halbierte sich bei den bezüglich KIF18a und KNL1 humanisierten Mäusen die Anzahl der in der späten Mitose von apikalen Vorläuferzellen zurückbleibenden Chromosomen, während sie sich bei den in den Ahnenzustand zurückversetzten menschlichen Organoiden mehr als verdoppelte. Demnach verbessern KIF18a und KNL1 in der Variante des modernen Menschen die Zuverlässigkeit der Chromosomen-segregation in apikalen Vorläuferzellen. Darüber hinaus zeigte das Gehirn ausgewachsener, bezüglich KIF18a und KNL1 humanisierter Mäuse keine auffälligen morphologischen Veränderungen.

Massive Zellvermehrung dank effizienter Fettsäuresynthese

Transketolase-like1 (TKTL1), ein Enzym des Pentosephosphat-Wegs, zeichnet sich ebenfalls durch einen Aminosäureaustausch aus, nämlich ein Arginin in Position 317 beim modernen Menschen anstelle von Lysin bei archaischen Menschen und Menschenaffen. Auch dieses Protein wird während der Embryonalentwicklung des Menschen vor allem in neuronalen Vorläuferzellen des Neocortex exprimiert. Seine Bedeutung für die Entwicklung des Neocortex wurde in Mausembryonen untersucht, die im Gegensatz zu denen des Menschen keine endogene TKTL1 im Neocortex exprimieren. Wurde die TKTL1 des modernen Menschen im Gehirn embryonaler

Mäuse exprimiert, so stieg der Anteil sich teilender basaler radiärer Gliazellen (Abbildung 1) selektiv auf den vierfachen Wert im Vergleich zu Kontroll-Mäusen [4]. Andere Vorläuferzellen waren von dieser Veränderung nicht betroffen, und die TKTL1-Variante der Affen zeigte keinerlei Wirkung. Entsprechende Veränderungen ergaben sich auch bei Embryonen des Frettchens, bei denen sich die erhöhte Zahl teilungsfähiger basaler radiärer Gliazellen nicht nur in einem Anstieg der Zahl der Neuronen, sondern auch in vergrößerten Hirnwindungen niederschlug [4]. Wurden dagegen menschliche embryonale Stammzellen durch Austausch des Arginins gegen Lysin in den Ahnenzustand versetzt, nahm die Anzahl der sich teilenden basalen radiären Gliazellen ab und letztlich wurden weniger Neuronen gebildet.

Demnach ist die Arginin-Variante der TKTL1 unerlässlich für die hohe Vermehrungsfähigkeit der basalen radiären Gliazellen beim modernen Menschen. Um festzustellen, ob diese Wirkung mit der Enzymaktivität der TKTL1 in Zusammenhang steht, hemmten die Forscher mit spezifischen Inhibitoren den Ablauf des Pentosephosphat-Wegs, in dessen Verlauf die TKTL1 Xylulose-5-phosphat zu Glycerinaldehyd-3-phosphat und Acetat spaltet. Als Inhibitoren verwendeten sie NADP-Analoga wie 6-Aminonicotinamid, die den initialen Schritt des Pentosephosphat-Wegs, die Oxidation von Glucose-6-Phosphat zu 6-Phosphogluconolacton, unterbinden. In Gegenwart der Inhibitoren ging bei bezüglich TKTL1 humanisierten Mausembryonen die verstärkte Teilungsfähigkeit der basalen radiären Gliazellen verloren. Auch in kultiviertem fötalem Cortextgewebe des Menschen verringerte sich unter Einwirkung von NADP-Analoga die Zahl der basalen radiären Gliazellen. Demnach ist die Stoffwechselleistung des Pentosephosphat-Wegs relevant für die hohe Teilungsfähigkeit neuronaler

Vorläuferzellen des modernen Menschen.

Eine plausible Erklärung für diesen Befund ergibt sich aus dem weiteren Schicksal der Produkte Glycerinaldehyd-3-phosphat und Acetat, die durch weitere Umsetzungen im Grundstoffwechsel je ein Äquivalent Acetyl-CoA liefern können – den zentralen Baustein der Fettsäuresynthese. Wenn die ersten Schritte der Fettsäuresynthese – die Umsetzung von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA oder dessen anschließende Kondensation mit Acetyl-CoA – durch spezifische Inhibitoren gehemmt wurden, verringerte sich die Teilungsfähigkeit der basalen radiären Gliazellen in gleicher Weise wie durch die Hemmung des Pentosephosphat-Wegs. Die umfangreichen Befunde, die hier nur in Form eines groben Überblicks vorgestellt werden konnten, stützen die Annahme, dass die beim modernen Menschen vorliegende Variante der TKTL1 aufgrund ihrer Wirkung im Fettsäurestoffwechsel die Vermehrung der basalen radiären Gliazellen und infolgedessen die Entwicklung des Neocortex fördert.

Die vorgestellten Publikationen zeigen, wie die Erkenntnisse der Paläogenetik die Forschung auf dem Gebiet der Zell- und Entwicklungsbiologie beflügeln können. Die Untersuchung von Proteinen mit für den modernen Menschen spezifischen Aminosäureaustauschen liefert erste Einblicke, was den Menschen zum Menschen macht. Zur Faszination über diesen Erkenntnisgewinn gesellt sich der nachdenkliche Wunsch, dass die Menschheit mit diesem Wissen verantwortungsvoll umzugehen in der Lage sein möge.

- [1] S. Pääbo (2014). *Cell* 157, 216–226.
- [2] F. Mora-Bermúdez et al. (2022). *Sci. Adv.* 8, eabn7702.
- [3] F. Mora-Bermúdez, W. B. Huttner (2022). *Front. Neurosci.* 16, 878950.
- [4] A. Pinson et al. (2022). *Science* 377, eabl6422.

Annette Hille-Rehfeld, Stuttgart



Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

**GEMEINSAM
FÜR DIE**

BIEWISSENSCHAFTEN

Gute Gründe, dem VBIO beizutreten:

- Werden Sie Teil des größten Netzwerks von Biowissenschaftlern in Deutschland
- Unterstützen Sie uns, die Interessen der Biowissenschaften zu vertreten
- Nutzen Sie Vorteile im Beruf
- Bleiben Sie auf dem Laufenden – mit dem VBIO-Newsletter und dem Verbandsjournal „Biologie in unserer Zeit“
- Treten Sie ein für die Zukunft der Biologie



www.vbio.de

Jetzt beitreten!

